

Simposio

**LAS MICOSIS ENDÉMICAS Y OPORTUNISTAS
EN PACIENTES CON VIH****Epidemiología de la histoplasmosis en pacientes infectados
por el virus de la inmunodeficiencia humana**

Ángela María Tobón

Unidad de Micología Médica y Experimental, Corporación para Investigaciones Biológicas,
Medellín, Colombia

La histoplasmosis, enfermedad fúngica producida por el hongo dimorfo *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*, ha sido reportada en todos los continentes exceptuando la Antártida. El primer caso fue reconocido por Samuel Darling en Panamá en 1905 pero se diagnosticó erróneamente como leishmaniasis.

Suele ser diagnosticada más frecuentemente en Norteamérica donde existen importantes áreas endémicas en los valles de los ríos Ohio y Mississippi, así como en regiones localizadas en varios estados del medio-oeste. Igualmente y, ahora más que antes, también se la informa en Centroamérica y Suramérica y, en esta última, predomina en La Sierra Do Mar al sur de Brasil, la cuenca del río Orinoco en Venezuela y la del río de La Plata en Argentina, Uruguay y Paraguay. Esporádicamente se informan casos en Asia, África, la cuenca Mediterránea y Europa.

Histoplasma capsulatum (estado anamorfo) se encuentra clasificado en la clase de los Ascomycetes y su estado teleomorfo se llama *Ajellomyces capsulatus*. Crece a temperaturas inferiores a 35 °C como un hongo filamentoso saprofítico que se encuentra en suelos contaminados con excrementos de aves o de murciélagos ricos en contenido de nitrógeno; mientras que a 37 °C, tanto *in vitro* como en los tejidos del huésped, su crecimiento es el de una levadura.

Este hongo presenta a temperatura ambiente (inferior a 35 °C) dos tipos de colonias: la tipo A (albina o blanca) y la tipo B (*brown* o pardo). La tipo A se caracteriza porque desarrolla un micelio de color blanco, el cual es algodonoso, produce abundantes hifas y macroconidias y microconidias; la tipo B se caracteriza por presentar un micelio plano, escaso y de color canela a pardo con hifas pigmentadas y una gran cantidad de macroconidias tuberculadas (De Hoog y Guarro, 1995; Zuiani, *et al.*, 2006).

Microscópicamente se observan hifas delgadas y ramificadas de 1,2 a 1,5 µm de diámetro con microconidias sésiles, lisas, esféricas, piriformes o en forma de clava, sin tabiques, de pared fina, que pueden medir 1 a 4 x 2 a 6 µm. Las macroconidias se implantan en conidióforos cortos, son generalmente esféricas (8 a 14 µm de diámetro) de paredes gruesas, sin tabiques, de aspecto tuberculado o con proyecciones cilíndricas, fácilmente apreciables al microscopio óptico.

En el ambiente, *H. capsulatum* tiene necesidades precisas relacionadas con humedad (67 a 87 %), precipitación (30 a 50 mm anuales), temperatura media (22 a 29 °C), suelos ácidos y contenido alto de nitrógeno. La tierra contiene las formas infecciosas (microconidias) producidas por la fase de micelio del hongo, sustrato que se enriquece con el guano de murciélagos y los excrementos de aves. Los primeros pueden estar naturalmente infectados con el hongo y excretarlo en el guano. Su patrón migratorio puede expandir las áreas geográficas infectadas con el hongo, exponiendo a la infección pasiva a los individuos que cumplen sus actividades normales, o activamente en forma ocupacional o recreacional.

Por estudios moleculares se han definido ocho “clados” (*clades*) de *Histoplasma* spp. (descendientes de un ancestro común), a saber: dos norteamericanos, dos latinoamericanos y uno australiano, uno nórdico, uno euroasiático y uno africano. Su dispersión en el mundo se inició hace de 3 a 13 millones de años en Latinoamérica, y su variación filogenética influye sobre la presentación clínica en las diferentes regiones, en especial en la frecuencia del compromiso cutáneo en las formas diseminadas de la enfermedad.

En el pasado, y por medio de los estudios de sensibilidad cutánea a la histoplasmina, fue posible determinar la prevalencia de la infección por *H. capsulatum* en diferentes regiones. Para México fue

de 5 a 50 %, con una incidencia de histoplasmosis de 0,1 a 0,29 casos por 100.000 habitantes hasta el año 1997. Con el informe de 102 brotes con 1.444 casos involucrados, Panamá se considera un área de alta endemia, con prevalencia de infección del 50 % hasta el 2003. Venezuela con 42,7 % para el año 2004 en el estado de Bolívar y 34 % en la ciudad de Upata. En Brasil para el año 2006 la prevalencia en Salvador, Bahía, fue de 2,6 %, frente a Ilha do Governador y en Rio de Janeiro, con 93,2 %. Argentina ha reportado una incidencia entre 22,4 % y 53,6 % en la región de Tucumán, y para Colombia en 1976 se informó la mayor prevalencia (32 %) en la costa del Pacífico y menor en Antioquia (10 %), incluyendo hasta 1997 el registro de 16 brotes en las cuales resultaron infectadas más de 180 personas. La histoplasmosis no ha sido informada en Chile.

Con referencia a los brotes de histoplasmosis, han sido reportados después de numerosas actividades que involucran disturbios de la tierra especialmente de aquellas contaminada con excrementos de pájaros y murciélagos. Entre tales actividades se encuentran la limpieza de gallineros o trabajos cercanos a ellos, exploración de cuevas y minas abandonadas, limpieza de puentes y chimeneas con excrementos de pájaros, corte y recolección de árboles huecos contaminados, así como trabajo en bosques.

La mayoría de los casos son esporádicos y debidos a exposición pasiva y que no están asociados con fuente conocida. El desarrollo de enfermedad asociada con la diseminación inicial del hongo, depende del estado inmune del huésped. En los individuos infectados, y aun en presencia de una inmunidad celular activa, pueden persistir focos viables remanentes de *H. capsulatum* en varios órganos, los cuales pueden reactivarse más tarde cuando la inmunidad sufre alguna alteración.

En este contexto, la pandemia de infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) ha tenido un efecto significativo en la epidemiología de la histoplasmosis, especialmente en áreas de alta endemia, ya que los pacientes en este grupo con exposición previa a una fuente de contaminación, tienen el riesgo de desarrollar histoplasmosis en una proporción mayor (3,3 %) que aquellos con la misma historia de residencia pero que no están infectados por el virus. En 1987 la histoplasmosis diseminada progresiva fue incluida por los *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) como condición definitoria de sida.

En estos pacientes, la incidencia global de histoplasmosis es de 0,9 %, pero aumenta en

las áreas endémicas. En los Estados Unidos, la incidencia general es de 4 % pero en zonas de alta endemia, se eleva hasta 27 %.

Los pacientes con sida que tienen recuentos de linfocitos T CD4 menores de 150 células por μ l, presentan clínicamente la forma diseminada progresiva con compromiso extrapulmonar; ésta tiene una incidencia general de 1 por 2.000 casos de personas infectadas por *H. capsulatum*, y en pacientes con sida, esta cifra se aproxima a 25 %. En Argentina se ha informado en 22 % en estudios entre los años 1997 y 2001. En Colombia para los años 1992 a 2008, y de acuerdo con la encuesta nacional que incluyó 419 pacientes, 67,2 % de ellos presentaba infección concomitante con VIH como factor de riesgo dominante al desarrollar la histoplasmosis.

A pesar del incremento en el uso de HAART (*Highly Active Antiretroviral Therapy*), en áreas endémicas la histoplasmosis continúa siendo una infección oportunista importante entre los pacientes infectados por el VIH. En individuos sanos, la histoplasmosis es típicamente una enfermedad subclínica o limitada al pulmón; sin embargo, en pacientes con VIH/sida, la manifestación de infección diseminada es casi siempre universal y tiene un mal pronóstico.

La terapia HAART ha disminuido las tasas de incidencia de la histoplasmosis pero ésta continúa presentándose en pacientes con diagnóstico reciente de infección por VIH y, especialmente, en aquellos sin terapia HAART, que presentan tasas de mortalidad tan altas como de 12 a 23 % en Norteamérica y de 19 a 39 % en Suramérica.

Cuando la iniciación de la terapia HAART permite la restauración de la inmunidad pueden aparecer signos de inflamación relacionados con la presencia de agentes oportunistas. En pacientes con histoplasmosis subclínica, ésta puede llevar a una exacerbación de los síntomas y a la aparición de signos focales, y al diagnóstico de esta infección no reconocida previamente. El tiempo de mayor riesgo para desarrollar histoplasmosis como reactivación de infección latente, es en los primeros 2 meses de iniciar la terapia HAART y es mayor que en los pacientes no tratados para el VIH (17,7 Vs. 2,8 por 100 personas por año).

Lecturas recomendadas

1. Anstead GM, Patterson TF. Histoplasmosis. Endemic mycoses. In: Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, editors. Clinical mycology. Philadelphia: Churchill Livingstone, Elsevier; 2009. p. 355-75.
2. Arango M, Castañeda E, Agudelo CA, *et al.* Histoplasmosis in Colombia: results of the Colombian

- National Survey, 1992-2008. Biomedica. 2011;31(3), publication ahead of print.
3. Baddley JW, Sankara IR, Rodriguez JM, *et al.* Histoplasmosis in HIV-infected patients in a southern regional medical center: poor prognosis in the era of highly active antiretroviral therapy. *Diag Microbiol Infect Dis.* 2008;62:151-6.
 4. Carneño J, Carneño J, Godoy G, *et al.* Epidemiological study of paracoccidioidomycosis and histoplasmosis in a suburb of San Félix city, Bolívar State, Venezuela. *Invest Clin.* 2009;50:213-20.
 5. Colombo AL, Tobón A, Restrepo A, *et al.* Epidemiology of endemic systemic fungal infections in Latin America. *Med Mycol*, 2011, in press.
 6. Deepe GS Jr. *Histoplasma capsulatum*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Principles and practice of infectious diseases. Seventh edition. Philadelphia: Churchill Livingstone, Elsevier; 2010. p. 3305-18.
 7. Guimaraes AJ, Nosanchuc JD, Zancopé-Oliveira RM. Diagnosis of histoplasmosis. *Brazilian J Microbiol.* 2006;37:1-13.
 8. Kauffman CA. Histoplasmosis. In: Kauffman CA, Pappas PG, Sobel JD, Dismukes WE, editors. Essentials of clinical mycology. Second edition. New York: Springer; 2011. p. 321-35.
 9. Kauffman CA. Histoplasmosis: a clinical and laboratory update. *Clin Microbiol Rev.* 2007;20:115-32.



Coccidioidomycosis

Alexandro Bonifaz

Departamento de Micología, Servicio de Dermatología, Hospital General de México OD,
México, D.F., México

Introducción

La coccidioidomycosis es una micosis profunda que, generalmente, afecta pulmones, piel y ganglios linfáticos y que puede diseminarse a diferentes órganos. Es producida por dos hongos estructuralmente similares y diferentes genéticamente: *Coccidioides immitis* y *Coccidioides posadasii*; son hongos mitospóricos, dimorfos, clasificados en el orden de los *Onygenales*.

Estos agentes etiológicos presentan diversos factores de virulencia entre los que destacan la transformación morfológica, gran potencial biótico, envoltura hidrófoba, cubierta mucilagínosa de las endosporas, producción de grupos sulfhidrilo y proteasas, así como producción de melanina y diversos mecanismos de evasión del sistema inmune.

Epidemiología

La coccidioidomycosis se presenta en el continente americano y las zonas endémicas guardan características comunes, son regiones semidesérticas, formadas por tierras arcillo-arenosas, de poca retención acuosa, la precipitación pluvial es de 150 a 500 mm por año, temperatura promedio de 28 °C en verano y 7 °C en invierno, pero con variabilidad extrema entre 0 °C y 45 °C.

Las dos especies tienen la siguiente distribución geográfica, *C. immitis* en la zona sur de California Estados Unidos, y *C. posadasii* en el resto de Estados Unidos y en los diversos focos de América latina. La zona más extensa involucra la franja fronteriza entre México y Estados Unidos,

en los estados de California, Arizona, Texas, Nuevo México, Nevada y Utah, y en México: Baja California, Sonora, Sinaloa, Nuevo León, Chihuahua, Coahuila, Tamaulipas, Zacatecas y Durango.

La segunda zona es la del centro del continente, es la de menor importancia e involucra focos aislados en Centroamérica: Guatemala, Nicaragua, Honduras y norte de Suramérica: en Colombia (departamentos de Magdalena y César); en Venezuela (estados de Falcón y Lara) y entre los límites de ambos países (la península de la Guajira) y hay un foco de reciente estudio en el noreste de Brasil, que involucra los estados de Piauí, Maranhão y Bahía.

La tercera zona del continente que fue la del primer caso descrito por Posadas, corresponde a la región de "El Chaco", que incluye el norte de Argentina y parte de Paraguay.

Se calcula que en los Estados Unidos hay 150.000 casos nuevos cada año, siendo el 60% asintomático. Los *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) de Atlanta, reportó que en el periodo de 1995 a 2000 la incidencia fue de 2,4 hasta 8 casos por 100.000 habitantes y en algunas zonas específicas, como el condado de Kern, se reportaron de 53,9 a 150 por 100.000 habitantes. En México se estima una incidencia entre 0,5 y 2,6 casos por 100.000 habitantes y se calculan 500 casos nuevos, 15 de ellos con enfermedad diseminada.

Aspectos clínicos

La coccidioidomycosis se divide en: primaria —pulmonar o cutánea—, residual y secundaria o

progresiva. Hay casos diseminados a meninges y diversos órganos.

Los cuadros asintomáticos, sólo se consideran cuando son positivos a la intradermorreacción (coccidioidina). Los casos sintomático (25 a 40%), se presentan a las tres semanas posteriores a la inhalación del hongo; aparenta un cuadro leve de las vías respiratorias, con fiebre moderada, cefalea, escalofríos, diaforesis nocturna y tos seca. En el pulmón hay formación de nódulos, rara vez existen lesiones de cavidades. Los casos crónicos son similares a la tuberculosis o a la histoplasmosis. Puede haber cambios pulmonares como: infiltrado neumónico (homogéneo, se extiende desde el hilio hasta la parte media, pudiendo involucionar, si los síntomas desaparecen) y derrame pleural.

La coccidioidomicosis cutánea primaria se inicia por traumatismos cutáneos con una solución de continuidad, es poco frecuente y su localización puede ser en cara, brazos o piernas, iniciando también de dos a tres semanas posteriores a la inoculación con la aparición de un chancro con adenitis y linfangitis, que genera una lesión nódulo-gomosa que progresa hasta formar una úlcera y se convierte en una placa verrugosa vegetante cubierta de costras sanguíneas y "melicéricas".

La coccidioidomicosis residual es precedida por un cuadro pulmonar primario asintomático; presenta pocos datos clínicos; en la radiografía se pueden observar cavitaciones pulmonares o lesiones tumorales encapsuladas; la intradermorreacción es positiva y la serología suele resultar negativa.

La forma aguda se presenta con fiebre, dolor torácico, tos productiva abundante, purulenta y, en ocasiones, hemoptisis. La forma progresiva puede persistir por décadas, evoluciona con gran lentitud y es relativamente resistente al tratamiento.

Las lesiones nodulares son áreas bien limitadas de 2 a 4 cm, se localizan en el parénquima pulmonar, pueden ser únicas o múltiples y tienen tendencia a la resolución; sin embargo, en la coccidioidomicosis residual se hallan limitados, calcificados, de aspecto quístico o fibroso, y pueden persistir por muchos años. Este cuadro es muy similar al observado en focos de metástasis o nodulares de la tuberculosis primaria. Las adenopatías hiliares y de mediastino se observan sólo en casos graves, o con infiltrado parenquimatoso, son fáciles de confundir con tumores del mediastino.

Los casos miliares son poco frecuentes y de mal pronóstico, su sintomatología es de fiebre constante y alta, el ataque al estado general es serio, y se llega a presentar hepatomegalia y esplenomegalia.

En los rayos X se observan lesiones similares a las de la tuberculosis miliar.

La meningitis coccidiodea se puede presentar en forma aguda o crónica; la segunda es la más común, se inicia por diseminación pulmonar, y es de curso fatal. Sus características clínicas son: cefalea intensa, fiebre moderada, parálisis, trastornos de la memoria y desorientación.

La diseminación cutánea se hace a partir de un foco pulmonar, es frecuente y se puede localizar en cualquier parte del cuerpo, es más frecuente en las regiones ganglionares (axilares, inguinales y en cuello). Su morfología es de abscesos fríos o lesiones gomosas que pueden evolucionar hacia la formación de úlceras, fístulas y lesiones cicatriciales retráctiles. Puede haber diseminación ósea (esternón, fémur) y articular (codos, rodillas).

Los principales diagnósticos diferenciales de los casos pulmonares son: influenza, neumonía bronquial atípica, bronquitis, tuberculosis, histoplasmosis y blastomicosis; para los casos cutáneos: tuberculosis colicuvativa y verrugosa, esporotricosis, carcinoma espinocelular, tularemia, osteomielitis bacteriana y micobacteriosis no tuberculosa.

Diagnóstico de laboratorio

Se hace con muestras de lavados bronco-alveolares, esputo o exudados. Se tratan con hidróxido de potasio al 10-20 % y en el microscopio se observa la forma parasitaria, o esférulas, estructura de 20 a 70 μm de diámetro con endosporas en su interior. Los cultivos sólo deben realizarse en laboratorios que cuenten con medidas adecuadas de seguridad (campana de bioseguridad de nivel III), ya que la fase filamentosa obtenida en los medios de cultivo es sumamente peligrosa por su carácter infeccioso. Los cultivos se obtienen a una temperatura de 28-30 °C durante 4 a 8 días; ambas especies de *Coccidioides* producen colonias blancas, vellosas, sin pigmento difusible al medio de cultivo, y en la microscopía se observan filamentos tabicados, con artroconidios unidos por una membrana delgada llamada artículo.

La biopsia es sumamente útil para los casos cutáneos y linfáticos; en la piel se puede apreciar hiperplasia pseudoepiteliomatosa en la epidermis con microabscesos de polimorfonucleares; en la dermis se observan granulomas supurativos con abundantes células gigantes de tipo Langhans a cuerpo extraño con linfocitos y plasmocitos; en las zonas de necrosis pueden encontrarse polimorfonucleares, más la presencia de las esférulas, sobre todo entre los granulomas; de

forma similar, se pueden observar estos cambios tisulares en los ganglios linfáticos. Las tinciones más útiles son la hematoxilina y eosina, PAS y la de Grocott.

En la intradermorreacción a la coccidioidina (de fase de micelio) se aplica intradérmicamente una décima de centímetro cúbico, y se lee a las 48-72 horas. La presencia de eritema e induración de 5 mm mayor se considera positiva.

La serología sólo se puede aplicar entre la segunda y tercera semanas posteriores al inicio de la enfermedad por lo que se consideran poco útiles. La fijación del complemento detecta de manera indirecta la presencia de anticuerpos circulantes, por lo cual es útil para el seguimiento de la enfermedad.

Otras técnicas, como radioinmunoanálisis, ELISA o inmunofluorescencia, pueden aplicarse pero no ofrecen ventajas sobre la fijación de complemento y son más costosas. También pueden utilizarse técnicas de biología molecular, sobre todo en tejidos de pacientes, pero pueden resultar inoperantes por su alto costo y exigencia de equipo y personal calificado.

Tratamiento y profilaxis

El tratamiento de elección es la anfotericina B, sobre todo para los casos diseminados y graves. La dosis empleada para la forma tradicional (desoxicolato) es de 0,25 a 0,75 mg/kg de peso; en las presentaciones con lípidos, de 3-5 mg/kg por día. Se puede administrar conjuntamente o como tratamiento de mantenimiento con triazoles, como el itraconazol, a dosis entre 300 y 400 mg/día (por vía oral y puede reducirse hasta 100 o 200 mg/día; el fluconazol se debe administrar a dosis entre 200 y 400 mg/día, en especial en casos meníngeos. Actualmente, se han empezado a utilizar con buenos resultados dos azólicos de reciente creación: el voriconazol y el posaconazol; ambos se manejan a dosis similares de 800 mg/día, repartidos en dos tomas, por tiempo prolongado. La caspofungina se

recomienda asociada a la anfotericina B, a dosis de 50-70 mg/día.

Debido a que *C. immitis* y *C. posadasii* habitan en grandes zonas endémicas, y se transmiten a través del aire, las medidas profilácticas son prácticamente nulas; sin embargo, en los lugares en los que se ha reportado un número considerable de casos, puede utilizarse un fungicida llamado 1-cloro-2-nitropropano que debe dispersarse en el suelo; presenta gran actividad haciendo que ambos hongos pierdan su capacidad infecciosa en un tiempo promedio de 24 horas.

Lecturas recomendadas

1. Ampel NM. Coccidioidomycosis: a review of recent advances. Clin Chest Med. 2009;30:241-51.
2. Anstead GM, Graybill JR. Coccidioidomycosis. Infect Dis Clin North Am. 2006;20:621-43.
3. Binnicker MJ, Buckwalter SP, Eisbner J. Detection of *Coccidioides* species in clinical specimens by real-time PCR. J Clin Microbiol. 2006;15:173-8.
4. Bonifaz A. Coccidioidomycosis. En: Micología médica básica. Tercera edición. México, D.F.: McGraw-Hill Ed.;2010. p. 223-39.
5. Carmichael JK. Coccidioidomycosis in HIV-infected persons. Clin Infect Dis. 2006;42:1059.
6. Di Caudo DJ. Coccidioidomycosis: a review and update. J Am Acad Dermatol. 2006;55:929-42.
7. Eisten HE, Johnson RH. Coccidioidomycosis: new aspects of epidemiology and therapy. Clin Infect Dis. 1993;16:349-54.
8. Landiano-Laborín R. Coccidioidomycosis, más que una enfermedad regional. Rev Inst Nal Enf Resp Mex. 2006;19:301-8.
9. Lupi O, Tying SK, McGinnis MR. Tropical dermatology: fungal tropical diseases. J Am Acad Dermatol. 2005;53:931-51.
10. Parish JM, Blair JE. Coccidioidomycosis. Mayo Clin Proc. 2008;83:343-8.
11. Roberts CJ. Coccidioidomycosis in acquired immune deficiency syndrome. Am J Med. 1984;76:734-6.
12. Spinello IM, Muñoz A, Johnson RH. Pulmonary coccidioidomycosis. Semin Respir Crit Care Med. 2008;29:166-73.

• • •

La criptococosis y su agente etiológico

Elizabeth Castañeda

Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

Definición

La criptococosis, micosis que afecta al hombre y a los animales, es ocasionada por dos especies, dos variedades y varios híbridos (serotipos AD, AB y BD) de una levadura encapsulada, reconocida hoy como el complejo de especies *Cryptococcus neoformans* (*C. neoformans* var. *grubii*, serotipo A, *C. neoformans* var. *neoformans* serotipo D) / *Cryptococcus gattii* (serotipos B y C). Este complejo agrupa levaduras basidiomicetáceas cuyo teleomorfo, o fase sexuada, clasifica la levadura en el filo Basidiomycota, orden Filobasidiales, familia Filobasidiaceae, género *Filobasidiella*. Sin embargo, se lo conoce mejor bajo su anamorfo, o fase asexual, la que lo asigna al filo Deuteromycota, clase Blastomycetes, orden Cryptococcales, familia Cryptococaceae, género *Cryptococcus*.

Propágulos infectantes

Las blastoconidias, estructuras de reproducción del anamorfo del hongo, son consideradas como los propágulos infectantes y están ampliamente distribuidas en el ambiente; el consenso señala que los individuos las adquieren por inhalación. Probablemente, también las basidiosporas, estructuras de reproducción sexual del teleomorfo del hongo género *Filobasidiella*, pueden considerarse como propágulos infectantes, basados en los modelos en ratón que han demostrado su papel como estructuras infecciosas.

La historia natural de la criptococosis no está todavía bien elucidada pero numerosos estudios ya publicados señalan que existen diferencias entre las especies y las variedades de acuerdo con el tipo de huésped y el daño orgánico resultante. En la mayoría de los pacientes con condición clínica de base, en especial los pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) prevalece *C. neoformans* var. *grubii* mientras que en huéspedes inmunocompetentes, predomina *C. gattii*. Actualmente se han revelado numerosas diferencias en la distribución geográfica, los nichos ecológicos, la epidemiología, la patogénesis, las características clínicas y los patrones moleculares de las dos especies.

Hábitat

El hábitat de *C. neoformans*, definido desde 1955, lo constituyen los suelos enriquecidos con excrementos de aves, principalmente de

palomas (*Columba livia*); el hábitat de *C. gattii* fue establecido en 1990, cuando investigadores australianos señalaron como fuente natural los detritos de algunas especies de *Eucalyptus* en floración. A partir de esa fecha, *C. gattii* ha sido aislado de la naturaleza en asociación con detritos, flores y oquedades de numerosos árboles, entre ellos los eucaliptos, las acacias, los ficus y los almendros. Posteriormente se describió que esta asociación con material vegetal es común para las dos especies si se tiene en cuenta que la actividad de la lacasa le permitiría al complejo *C. neoformans* desarrollarse en la madera en descomposición. En el ambiente, las blastoconidias son poco capsuladas y su tamaño es de 3 µm a 5 µm, lo que permite asumir que se pueden adquirir por inhalación.

Identificación en el laboratorio

Se realiza con base en la determinación de características fenotípicas, muchas de las cuales representan los factores de virulencia del complejo, descritos y estudiados previamente en forma amplia. Entre ellas están:

- La cápsula de polisacáridos puesta de manifiesto por observación microscópica con la tinción de contraste con tinta china, a partir de la muestra clínica o del cultivo. La cápsula es el factor de virulencia más estudiado, está constituida en el 88 % por el glucuronoxilomanano, con epítomos antigénicos que se emplean para clasificar los cuatro tipos de las especies del complejo: A, B, C y D. La cápsula está cargada negativamente, es hidrófila y capaz de proteger a la levadura de la desecación en el medio ambiente.
- El crecimiento a 37 °C, se determina en agar con glucosa de Sabouraud, incubado a 35-37 °C durante 48 a 72 horas. Le permite al hongo, adaptarse a las condiciones fisiológicas del huésped y diferencia al complejo de las otras especies del género *Cryptococcus* que no crecen a esa temperatura.
- La ureasa, determinada en medio con urea y un indicador, actividad que lo diferencia de las especies del género *Candida* y explica su asociación, con los excrementos de aves en la naturaleza. En el huésped, le permite al hongo cruzar la barrera hematoencefálica.
- La lacasa o fenol oxidasa, se revela en los

medios con los substratos adecuados, agar semillas de *Guizzotia* o agar con ácido cafeico. La enzima convierte los compuestos difenólicos (L-DOPA, epinefrina, norepinefrina) a melanina, actividad que explica la relación cada vez más documentada del hongo con material vegetal en el medio ambiente.

- La fosfolipasa B, determinada en los medios con el substrato adecuado, agar con glucosa de Sabouraud con suplemento de yema de huevo. Las funciones de esta enzima incluyen el facilitar la adhesión del hongo a las células epiteliales pulmonares, iniciar la infección intersticial pulmonar y promover la diseminación a los órganos a través de las vías linfática y sanguínea.

Para el diagnóstico también se emplea, con mucho éxito, la determinación del antígeno circulante tanto en suero como en líquido cefalorraquídeo, con el empleo de una prueba inmunológica basada en la aglutinación de partículas de látex, sensibilizadas con anticuerpos anti-*Cryptococcus*. Desde hace varios años se ha cuestionado el valor de la prueba para la tamización de los pacientes infectados con el VIH y, recientemente, ha sido recomendada como una de las pruebas por realizar en esos pacientes, especialmente en aquellos con un nivel de células CD4+ igual a 100/ml o mayor. La determinación es costo-efectiva y causa un impacto en la reducción de la mortalidad.

Técnicas moleculares

El empleo de las numerosas técnicas moleculares descritas para el estudio del complejo *Cryptococcus* ha permitido el avance de los estudios denominados de epidemiología molecular. Entre las técnicas están: la huella digital con PCR, el análisis de la longitud de los fragmentos polimórficos amplificados (AFLP), la amplificación al azar del ADN polimórfico (RAPD), el análisis de la longitud de los fragmentos de restricción polimórficos (RFLP), la cariotipificación y la secuenciación de siete a diez genes tipo *housekeeping* (MLST).

Los estudios con huella digital por PCR con minisequencia del *core* de M13 y microsatélites

GACA4 y GTG5 y RFLP de dos genes independientes, orotidin monofosfato pirofosforilasa (*URA5*), y fosfolipasa (*PBL1*), así como el análisis de AFLP en más de 2.000 aislamientos del complejo *C. neoformans* han establecido ocho tipos moleculares, los cuales aparecen al final de la página.

La técnica de MLST con el análisis de las secuencias parciales de genes *housekeeping* se ha convertido en el método de tipificación molecular de elección para investigaciones epidemiológicas de un gran número de microorganismos. La técnica basada en secuenciación presenta resultados reproducibles no ambiguos, que pueden ser comparados y están disponibles a través de una red electrónica (<http://www.mlst.net>).

Encuesta nacional

Con el fin de obtener información sobre los aspectos clínicos y epidemiológicos de esta micosis en Colombia, se está llevando a cabo, a partir de 1997, una encuesta nacional. En 13 años de la encuesta (1.400 registros) en la que han participado médicos clínicos y bacteriólogos de 76 centros situados en 25 departamentos y en Bogotá, los datos señalan que la criptococosis en Colombia se presenta principalmente en población masculina (80%), el 77% de ellos entre los 21 y los 50 años. El factor de riesgo más importante es la infección por el VIH (80%). La forma clínica predominante es la neurocriptococosis en 96,4%. El agente etiológico es *C. neoformans* var. *grubii*, serotipo A, en 96%, *C. gattii*, serotipo B, en 3%, *C. gattii*, serotipo C, en 0,5% y *C. neoformans* var. *neoformans*, serotipo D, en 0,5%.

La encuesta epidemiológica sobre la criptococosis en Colombia se encuentra disponible en:

<http://www.ins.gov.co> y en

<http://www.cib.org.co/indices/Otros/Encuestacriptococosis.doc>.

Brote de criptococosis

A partir de 1999 se ha reportado en la isla de Vancouver en la provincia canadiense de Columbia Británica, un número inusual de casos

Especie	Serotipo	Patrones moleculares
<i>C. neoformans</i> var. <i>grubii</i>	A	VNI = AFLP1, VNII = AFLP1A y 1B VNB = AFLP1A (Botsuana, Sudáfrica)
<i>C. neoformans</i> var. <i>neoformans</i>	D	VNIV = AFLP2
Híbrido AD	AD	VNIII = AFLP3
<i>C. gattii</i>	B y C	VGI = AFLP4, VGIII = AFLP5, VGIV = AFLP7 VGII = AFLP6, (VGIIa = AFLP 6a, VGIIb = AFLP 6b, VGIIc)

de criptococosis pulmonar (72% del total) y del sistema nervioso central (26%) en huéspedes inmunocompetentes, ocasionados por *C. gattii*. El brote ha producido más de 120 casos confirmados, con 4 muertes, con una incidencia de criptococosis en la isla de 37 por millón. También se diagnosticó la criptococosis en más de 200 animales. El aislamiento de *C. gattii*, serotipo B, se logró a partir de un gran número de árboles nativos: arces, robles, pinos, abetos y cedros pero no de eucaliptos. Igualmente, las blastoconidias fueron aisladas del aire. Los estudios moleculares indicaron que *C. gattii*, serotipo B, aislados de los pacientes,

los animales y del ambiente correspondían a dos subtipos del patrón VGII: VGIIa/AFLP6a, el más frecuente y más virulento y VGIIb/AFLP6b, ambos pareja sexual α , altamente fértiles *in vitro*. Aislamientos del tipo clonal VGII, se han reportado en los estados de Oregon y Washington en los Estados Unidos creando una gran preocupación sobre la extensión del brote a ese país.

Lectura recomendada

Heitman J, Kozel TR, Kwon Chung KJ, Perfect JR, Casadevall A, editors. *Cryptococcus*, from human pathogen to model yeast. Washington, D.C.: ASM Press; 2011.

• • •